

УДК 577.322

Н. И. Румянцева^{1,2}, А. Н. Акулов^{1,2},
А. В. Лайков², А. И. Валиева¹,
Е. А. Гумерова¹, Ю. А. Костюкова¹

¹Казанский институт биохимии и биофизики-обособленное
структурное подразделение ФИЦ «КазНЦ РАН»,
420111 Россия, Казань, а/я 30,
nat_rumyantseva@mail.ru

²Казанский федеральный университет,
420008, Россия, Казань, ул. Кремлевская, 18,
alexander.laykov@yandex.ru

ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫЕ БЕЛКИ ГРЕЧИХИ ТАТАРСКОЙ*

Ключевые слова: гречиха татарская, суспензионные культуры, секретом.

Секреторные процессы обуславливают важную роль при взаимодействии растений с окружающей средой, поскольку белки и другие соединения, секретируемые в апопласт, могут формировать первую линию защиты в ответ на действие биотических и абиотических стрессоров [1]. Изучение состава и динамики экстраклеточных белков в норме и при определенных стрессовых нагрузках может способствовать выявлению новых механизмов защиты растений, а также биомаркеров для создания или отбора форм растений, устойчивых к стрессорам различной природы. Впервые проведено изучение секретомы гречихи татарской – дикого вида гречихи, являющегося ценным источником биологически активных фенольных соединений. В качестве объекта исследований использовали суспензионные культуры *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn., отличающиеся по регенерационной активности и степени дифференцировки: морфогенную суспензионную культуру (МСК) и неморфогенную суспензионную культуру (НСК). Цель работы заключалась в проведении сравнительного анализа секретомы морфогенной и неморфогенной суспензионных культур *F. tataricum*. Экстраклеточные белки выделяли из лиофильно высушенной культуральной среды с последующей фенольной очисткой на четвертые сутки пассажа в фазу наиболее активного деления клеток. Белковые фракции подвергали гидролитическому расщеплению с помощью трипсина и смесь протеолитических пептидов анализировали хроматомасс-спектрометрическим методом (ВЭЖХ–МС/МС). Идентификацию белков проводили по протеомной базе *F. tataricum* и переаннотировали по протеомной базе UniProtKB; анализировали на присутствие С- и N- концевых гидрофобных доменов, трансмембранных доменов; классифицировали по биологическим и молекулярным функциям. С использованием gel-free технологии идентифицировано около 400 экстраклеточных белков МСК и НСК. Установлено, что в секретоме МСК и НСК содержание белков с сигнальным пептидом составляет около 40 и 52%, соответственно. В обеих культурах значительную часть экстраклеточных белков, не имеющих сигнального пептида, представляют многофункциональные белки,

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Республики Татарстан в рамках научного проекта № 18–44–160016\18.

© Румянцева Н. И., Акулов А. Н., Лайков А. В., Валиева А. И., Гумерова Е. А., Костюкова Ю. А., 2018

относящиеся к классу многофункциональных (moonlighting) белков, что может указывать на вовлечение неклассической секреции белков в формирование секретомы суспензионных культур *F. tataricum*. Известно, что неклассически секретируемые белки присутствуют во всех изученных секретомы растений [2]. Большое содержание белков без сигнального пептида в МСК по сравнению с НСК может свидетельствовать о том, что процессы дифференцировки в растениях, так же как и в животных, сопряжены с неклассической секрецией белков. Вероятно, в случае внеклеточной локализации многофункциональные белки выполняют функции, отличные от тех, которые им свойственны при внутриклеточной локализации. Влияние локализации на проявление дополнительной функциональной активности характерно для многих мультифункциональных белков [3].

Биоинформационный анализ показал, что в секретомы НСК и МСК гречихи татарской белки, содержащие гликозилфосфатидилинозитольный якорь (ГФИ-якорь), или ГФИ-заякоренные белки (ГФИ-Б), составляют около 8 и 10%. Известно, что все ГФИ-Б являются секретируемыми, но среди классически секретируемых белков в растениях с секвенированным геномом доля белков с ГФИ-якорями составляет всего 6–9% [4]. Поскольку доля классически секретируемых белков в секретомы гречихи оценивается в 40–52%, то высокий процент ГФИ-Б может свидетельствовать о направленном удалении этих белков с поверхности клеток суспензионных культур.

Согласно классификации по биологическим функциям, наибольшую долю в секретомы формируют белки, вовлеченные в углеводный метаболизм (с преобладанием белков клеточной стенки). Отличительной чертой секретомы МСК по сравнению с секретомом НСК является большая доля белков, участвующих в метаболизме белков и поддержании редокс гомеостаза. При этом основную часть защитных белков секретомы НСК составляют шапероны (белки теплового шока), а МСК – протеазы, а также ингибиторы протеаз и полигалактуроназ. Значительное содержание протеаз в секретоме МСК может быть обусловлено их разнообразной активностью, связанной не только с защитой клеток хозяина от чужеродных белков, но и вовлечением в процессинг белков, выделение биоактивных пептидов, шеддинг белков с поверхности клеток [5]. Сделан вывод о том, что состав и свойства секретомы зависят от степени дифференцированности суспензионной культуры и в целом отражают ее физиолого-биохимические особенности.

Предварительный анализ секретомы апопласта листа выявил, что количество содержащихся в нем белков сопоставимо с количеством экстраклеточных белков морфогенной суспензионной культуры. Тем не менее результаты двумерного электрофореза наглядно свидетельствуют о различиях в спектре секретируемых белков листа и суспензионной культуры.

Список литературы

1. Apoplast proteome reveals that extracellular matrix contributes to multistress response in poplar / O. Pechanova, C.-Y. Hsu, J.P. Adams et al. // BMC Genomics. 2010. Vol. 11. P. 674.
2. Plant secretome – from cellular process to biological activity / C. Krause, S. Richter, C. Knüll et al. // Biochimica et Biophysica Acta. 2013. Vol. 1834. P. 2429–2441.

3. Jeffery C. J. Protein moonlighting: what is it, and why is it important? // Philosophical Transactions of the Royal Society B. 2017. Vol. 373. P. 1738.
4. PlantSecKB: The Plant Secretome and Subcellular Proteome KnowledgeBase / G. Lum, J. Meinken, J. Orr, S. Frazier et al. // Computational Molecular Biology. 2014. Vol. 4.
5. Protein Dynamics in the Plant Extracellular Space / L. Guerra-Guimarrès, C. Pinheiro, I. Chaves et al. // Proteomes. 2016. Vol. 4. P. 22.

УДК 57.033

**А. Ж. Бектурова, А. Ж. Догабаев,
Р. Ж. Ермухамбетова, А. Ж. Бари,
С. М. Касенова, С. Б. Жангазин, Ж. К. Масалимов**

*Евразийский национальный университет им. Л. Н. Гумилева,
010000, Казахстан, г. Астана, ул. Казымукана, 13,
assemgulbekturova@gmail.com*

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В УСЛОВИЯХ ТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА И ЗАСУХИ*

Ключевые слова: ячмень, температура, засуха, ферменты антиоксидантной защиты.

Абиотические стрессы различной силы и длительности снижают интенсивность физиологических процессов, активируют одни и ингибируют другие ферментные системы, что может отрицательно отражаться на метаболизме и продуктивности растений [1]. Засуха является одним из основных факторов внешней среды, который приводит к нарушениям синтетической способности растений, распаду белков, к изменениям коллоидно-химического состояния цитоплазмы и в итоге лимитирующих рост и урожайность растений [2].

Изучение реакции культурных растений на комбинированный стресс, а именно на степень адаптации культур и сортов к этим стрессам, актуально в настоящее время. Были проведены исследования по изучению комбинированного воздействия засухи и температуры на активность ферментов антиоксидантной защиты в листьях побегов ячменя сорта Астана 2000. Была изучена активность ключевых ферментов супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ) и альдегидоксидазы (АО) в физиологически нормальных условиях, моделированной засухе и совместном действии стрессовых факторов. Засуху моделировали путем прекращения полива. Растения выращивали при комнатной температуре (25 °С) до появления проростков. После появления всходов растения опытного варианта прекращали поливать и выращивали при соответствующей температуре (10, 25 и 40 °С) в течение 5 суток.

Определение активности ферментов проводили при гель-электрофорезе в нативных условиях.

*Работа выполнена при поддержке гранта № BR05236574 КН МОН РК.

© Бектурова А. Ж., Догабаев А. Ж., Ермухамбетова Р. Ж., Бари А. Ж., Касенова С. М., Жангазин С. Б., Масалимов Ж. К., 2018